



Pulsatile tubular cardiac tissues fabricated by wrapping human iPS cells-derived cardiomyocyte sheets

著者名	鶴山 晋平
発行年	2019-02-15
URL	http://hdl.handle.net/10470/00032396

学位論文の要約

Pulsatile tubular cardiac tissues fabricated by wrapping human iPS cells-derived cardiomyocyte sheets

ヒト iPS 細胞由来心筋細胞シートを用いた拍動性管状心筋組織の構築

東京女子医科大学大学院
先端生命科学系専攻 代用臓器学分野
(指導：清水 達也教授) ㊞
鶴山 晋平
Regenerative Therapy に投稿準備中

【目的】

近年、ヒト人工多能性幹細胞 (human induced pluripotent stem cells : hiPSc) を用いたドラッグスクリーニング、病態モデルが注目されている。しかしながら、培養皿上で hiPSc 由来心筋細胞を用いる研究では、主に電気生理学的解析のみが行われ、臨床的に行われている心臓の拍出機能はモデル化できていない。そこで本研究では、3次元心筋組織モデルとして内圧測定が可能な、ヒト拍動性管状組織を構築することを目的とした。

【対象および方法】

生体適合性のある光硬化樹脂で作製した内径 2mm の軸の外周に 20mm 角の正常ヒト皮膚線維芽細胞 (Normal Human Dermal Fibroblasts : NHDF) シートを三層積層し巻き付け、その外周に hiPS 細胞由来心筋細胞シートを 1 枚巻き付けた。細胞シートを巻き付けた軸の両端は生体用接着剤で固定した。この軸を 37°C で保たれた培養ボックス内で環流培養システムと接続し、定常流 (流速 0.5 mL/min) で 4 日間環流培養を行った。細胞シートを巻き付けた軸にスリットがあり、環流培地の水圧により管状組織が軸から脱離し膨張する構造とした。環流後の評価として、マイクروسコープによる観察、組織切片の染色、ミラーカ

テーテルによる拍動内圧の検出と電極による電位の検出を行った。また、管状組織に対する電気刺激を行い、刺激応答中に流路出口径を減じることで管状組織内の管腔容量を増加させ管状組織の拍動圧変化を測定した。さらに、管状組織と静置培養した積層細胞シートの心筋関連 RNA 発現量の違いを RT-qPCR を用いて比較評価した。

【結 果】

管状組織が自律拍動していることを確認した。また、心筋トロポニン T の蛍光免疫染色により管状組織内の心筋細胞を観察した。環流 4 日目の拍動内圧は 0.13 ± 0.11 mmHg (n=10)、拍動数は 99 ± 46 bpm (n=10)、収縮速度 1.47 ± 0.67 mmHg/sec (n=8)、拡張速度 1.25 ± 0.54 mmHg/sec (n=8) であった。また、80bpm の電気刺激下で管腔容量を増大させたところ、それに応答して管状組織の拍動圧は上昇傾向があった。RT-qPCR による RNA 発現量を静置培養と比較した結果、心筋関連 RNA のうち心房性ナトリウム利尿ペプチドとミオシン軽鎖の発現に関しては有意に上昇していた ($p < 0.05$, n=5)

【考 察】

本研究により、構築したヒト管状心筋組織の容量負荷により、拍動圧が上昇傾向にあったことは、生体におけるフランク・スターリングの法則に合致するものであり、心臓の拍出機能はモデルとして有用であることが示唆された。一部成熟化を示す心筋関連 RNA の発現増加を認めたが、今後、電気刺激・機械的負荷条件を最適化することにより、より成熟化したモデル化が可能だと考える。

【結 論】

ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いた管状心筋組織は、新たな心臓評価モデルとして、基礎研究や創薬研究に寄与することが期待できる。